

## بازسازی، تجزیه و تحلیل توپولوژیکی شبکه متابولیکی بافت شکمبه گاو

• مریم قلی زاده

دانشجوی دکتری اصلاح نژاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

• جمال فیاضی (نویسنده مسئول)

دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، گروه علوم دامی

• یزدان عسگری

استادیار دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

• حکیمه زالی

استادیارگروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی شهید

بهشتی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۱۲-۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۱۲-۱۲

Email: j\_fayazi@asnrkh.ac.ir



### چکیده

شکمبه نقش محوری در بازده تولید در نشخوارکنندگان دارد. درک فرآیند متابولیسم بافت شکمبه می‌تواند منجر به بهبود بازده تولید و در نتیجه سود اقتصادی در نشخوارکنندگان شود. در پژوهش حاضر، شبکه متابولیکی بافت شکمبه گاو با استفاده از اطلاعات ژنومی و اطلاعات موجود در پایگاه‌های داده مختلف، بازسازی شد. نتایج حاصل از بازسازی شبکه شامل ۴۱۰ آنزیم، ۱۴۲۹ متابولیت به عنوان گره و ۱۷۷۷ واکنش به عنوان یال بود. ویژگی‌های این شبکه‌ی متابولیت محور توسط چند پلاگین نرم‌افزار سایتواسکیپ تجزیه و تحلیل شد. ۱۵ هاب متابولیت تعیین شد. نتایج جستجو در سایت KEGG pathway نشان داد که بیشتر هاب متابولیت‌ها شامل: کوآنزیم-آ، استیل کوآنزیم-آ، د-فرکتوز ۶ فسفات، ابی کینون، سوکسینات، الکترون ترانسفراز فلاوپروتئین، پیروات، تراهییدروفولات و ۲ اگزالات در واکنش‌های مربوط به چرخه متابولیک دخیل هستند. همچنین ژن‌های *CPT1A*، *CPT1B*، *CPTIC*، *ETFDH (2.3.1.41)*، *GPAM (2.3.1.15)*، *GPAT3*، *GPAT4*، *CPT2 (2.3.1.21)* در متابولیسم اسیدهای چرب شرکت می‌کنند که این ژن‌ها ممکن است برای بهبود بازده تولید محصولات گاوی ضروری باشند. توزیع درجه گره شبکه از توزیع درجه نمایی پیروی می‌کند بنابراین ویژگی مقیاس آزاد را نشان می‌دهد. میانگین طول مشخصه مسیر ۱۳/۱۴۲ و قطر شبکه ۳۸ بود که نشان می‌دهد شبکه ویژگی جهان کوچک را نیز دارد. پژوهش حاضر اولین مطالعه با هدف بازسازی شبکه متابولیکی بافت شکمبه است که ممکن است اطلاعات در جهت درک بیشتر پتانسیل متابولیکی شکمبه را بهبود دهد. هاب متابولیت‌ها در شبکه‌های مقیاس آزاد نقش معنی‌داری در حفظ ثبات توپولوژیک ایفا می‌کنند به همین دلیل بنظر می‌رسد برای تحقیقات اصلاح نژاد دام مفید باشند.

کلمات کلیدی: بافت شکمبه گاو، شبکه متابولیکی، تجزیه و تحلیل توپولوژیکی

- Veterinary Researches & Biological Products No 125 pp: 106-117

### Reconstruction and topological analysis of metabolic network in the bovine rumen tissue

By: Gholizadeh, M., Department of Animal Science, Faculty of Animal and Food Science. Fayazi, J., (Corresponding Author) Khuzestan Agricultural sciences and Natural Resources University, Mollasani, Ahvaz, Iran. Asgari, Y., School of Advanced Technologies in Medicine Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. and Zali, H., Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 2019-02-20

Accepted: 2019-03-03

Email: j\_fayazi@asnrkh.ac.ir

The rumen has a central role in production efficiency in ruminants. Understanding metabolism process of rumen tissue can improve production efficiency of ruminants. In the present work, the metabolic network in the rumen tissue of cattle was reconstructed using genome information and available knowledge of rumen tissue from BRENDA, KEGG, Uniprot and NCBI. The result of reconstruct network consisted of 410 enzymes, 1429 metabolites as nodes and 1771 reactions they take part as edges. The characteristics of the metabolite-centric network were analyzed using some plugins in Cytoscape software. The top 15 hub metabolites were determined. The result of search in KEGG pathway shown the most of hub metabolites include CoA, Acetyl-CoA, D-fructose-6-phosphate, ubiquinone, succinate, electron-transferring flavoprotein, pyruvate, tetrahydrofolate and 2-oxoglutarate, involved in reactions which participate in metabolic pathway. Also, the genes *CPT2*, *CPT1A*, *CPT1B*, *CPT1C* (EC 2.3.1.21), *ETFDH* (EC 2.3.1.41), *GPAM*, *GPAT4*, *GPAT3*, *GPAT2* (EC 2.3.1.15) participate in fatty acid metabolism that genes associated with this pathway may be essential to improve meat production efficiency of cattle research. The degree distribution of network follow power-law distribution hence displays a scale-free property. The average path length was 13.142 and diameter was 38 that shows the network also has small world properties. The present work is the first study to reconstruct rumen tissue network that may provide information to greater understanding on metabolic potential of rumen. Hub metabolites in scale-free networks play significant role in maintaining topological robustness, for this reason seem to be useful for bovine breeding researches.

**Keyword:** Bovine rumen tissue, Metabolic network, Topological analysis

### مقدمه

می‌توان راجع به ایجاد تغییرات بهینه در آن، فرضیه‌هایی را مطرح، آزمایش و در مراحل بعدی اعمال نمود (۵) و با در نظر گرفتن وجود داده‌های بیان ژن و اطلاعات حاشیه گذاری شده بافت‌های مختلف گاو، بنابراین بازسازی مدل زیستی مهم‌ترین بافت موثر بر بهبود بازده تولید یعنی شکمبه، امکان‌پذیر خواهد بود. یک مدل زیستی نشان دهنده ارتباط بین اجزا تشکیل‌دهنده یک سیستم می‌باشد. مطالعات سامانه‌های زیستی چارچوبی برای بررسی برهم‌کنش‌های بین سازوکارهای بیولوژیکی مختلف در یک بافت خاص یا در بین بافت‌ها را فراهم می‌کند (۱۸). سوخت و ساز سلول، شامل واکنش‌های بسیاری است که در بخش‌هایی با هم مرتبط هستند. فرآورده‌های هر واکنش، به عنوان واکنش دهنده‌های واکنش بعدی مورد استفاده قرار می‌گیرند و بدین ترتیب یک شبکه متابولیکی تشکیل می‌شود. شبکه متابولیکی به شبکه‌ای متشکل از متابولیت‌ها و واکنش‌های تبدیل آن‌ها به یکدیگر (واکنش‌های بیوشیمیایی) در یک سازواره گفته می‌شود. متابولیت‌ها معمولاً مولکول‌های کوچکی مثل گلوکز، ماکرومولکول‌هایی

افزایش تقاضای جهانی برای گوشت و شیر، بحران خشکسالی از یکسو و نوسانات شدید قیمت و رکود بازارهای جهانی از سوی دیگر سایه‌ای سنگین بر صنعت گاو‌داری افکنده که امروزه دامداران به دنبال دستیابی بیشینه تولید و افزایش بازدهی اقتصادی می‌باشند. در حال حاضر طبق آخرین آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی، تعداد ۱۸۸۳۰ واحد صنعتی گاو‌داری با ظرفیت ۲۰۴۸۵۶۳ راس در کشور مشغول فعالیت هستند. طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۷ تولید شیر دارای روند رو به رشد بوده است (۱۴). اما با این وجود روند رو به رشد سرانه تولید و به طبع آن مصرف شیر در ایران از حد استاندارد جهانی پایین تر است (۱۳). هدف اصلاح نژاد ایجاد تغییرات بهینه در حیوانات به منظور تولید و سود بیشتر است. یکی از حوزه‌های ضروری در پژوهش‌های گونه‌های اهلی با هدف افزایش بهره‌وری، شناسایی ژن‌هایی است که صفات تولیدی مهم را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۹). با توجه به اینکه با داشتن مدلی از یک سیستم زیستی،

می‌توان واکنش‌های کاتالیز شده‌ای که این آنزیم‌ها کد می‌کنند را از طریق شماره EC دریافت کرد، بنابراین مجبوریم این آنزیم‌ها را از دیتاست خارج کنیم. نهایتاً تعداد ژن‌های باقی مانده برای بافت مورد نظر و تعداد واکنش و آنزیم‌ها مشخص شد. در مرحله بعدی متابولیت‌های هر واکنش استخراج شد و اطلاعات مورد نیاز هر متابولیت شامل فرمول شیمیایی متابولیت، و پنج معرف شامل KEGGID، PubChemID، Metabolite CheBI ID، Gene ID، Uniport ID و مولفه سلولی هر متابولیت تهیه شد (۸، ۱۰). برای بازسازی این شبکه ۱۵ مولفه سلولی در نظر گرفته شد که شامل: هسته، سیتوزول، میتوکندری، سیتوپلاسم، غشای سلولی، دستگاه گلژی، غشای پروتئینی، رتیکولوم اندوپلاسمیک، پروکسیزوم، لیزوزوم، اسکلت سلولی، غشای میتوکندری، اکسوزوم، خارج سلولی و غشای پلازما بود. پس از آماده‌سازی فایل اولیه می‌توان متابولیت‌های رایج مانند ADP، ATP، CO<sub>2</sub>، O<sub>2</sub>، H<sub>2</sub>O، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و... را برای مرحله بعدی آنالیز حذف نمود و یا با وجود آن‌ها شبکه را بازسازی کرد (۱۸).

### بازسازی و نمایش شبکه متابولیکی بافت شکمبه

به منظور آماده‌سازی اطلاعات تهیه شده در فرمت خاص برای ادامه آنالیز، با استفاده از برنامه C++ فایل اولیه به فرمت "ژبان نشانه‌گذاری زیست‌شناسی سامانه‌ها" (SBML) تبدیل شد که فرمت استاندارد است که به صورت گسترده برای مدل‌سازی، ذخیره‌سازی و تبادل مدل‌ها پذیرفته شده است (۴). در این فرمت هر فایل حاوی اطلاعات شبکه‌های متابولیکی به صورت دو بخشی شامل متابولیت-آنزیم می‌باشد که این ویژگی باعث می‌شود تا آنالیز با روش‌های توپولوژیک با سختی روبرو شود. برای ساخت شبکه‌های متابولیت-متابولیت و آنزیم-آنزیم از گراف دوبخشی نیاز بود تا از برنامه‌ای استفاده شود که ورودی آن یک فایل SBML باشد و از روی آن و با در نظر گرفتن واکنش‌های برگشت‌پذیر و غیربرگشت‌پذیر، شبکه‌های متابولیت-متابولیت و آنزیم-آنزیم به صورت خروجی ساخته شوند. همچنین خروجی باید دارای فرمتی باشد که قابل استفاده در برنامه آنالیز شبکه باشد. لذا از ابزاری به نام SCAN-toolbox که در نرم‌افزار MATLAB اجرا می‌شود، برای تهیه شبکه متابولیکی استفاده شد. پس از آماده‌سازی داده‌ها از نرم‌افزار سایتواسکیپ (نسخه ۳،۶،۱) با قدرت گرافیکی و تجسم بالا، جهت مجسم‌سازی کلیه اطلاعات حاصل از شبکه متابولیکی و آنالیز پارامترهای آماری شبکه استفاده شد. این نرم‌افزار یک کتابخانه جاوا اسکریپت برای بازنمایی انواع شبکه‌های پیچیده است که دارای ۲۰۰ افزونه (پلاگین) جهت انواع آنالیزهای گراف شبکه می‌باشد (۶، ۹).

### آنالیز توپولوژیکی شبکه‌های متابولیکی

ویژگی‌های توپولوژیک شبکه‌های بازسازی شده توسط پلاگین‌های مختلف نرم‌افزار سایتواسکیپ مانند Network Analysis و CytoHubba تجزیه و تحلیل شدند (۶، ۱۶). چگونگی انتقال و انتشار اطلاعات از گره‌ها به یکدیگر برای تعیین نقش گره‌ها، را توپولوژیک یک شبکه تعیین می‌کند. توپولوژی در لغت به معنای نگاشت یک فضا به هندسه مکانی است که توپولوژی را توپولوژیک ساختار یک شبکه نیز می‌دانند. بر اساس ساختار، شبکه مشخصه‌های مختلفی پیدا می‌کند از جمله، قطر، مثلث‌ها،

مثل پلی‌ساکاریدها و گلیکان‌ها و اسیدهای آمینه هستند که توسط آنزیم‌ها به یکدیگر تبدیل می‌شوند. یک شبکه کامل متابولیکی بایستی تمام حالات ممکن جریان‌های مواد در سلول را نشان دهد، اگرچه کیفیت بازسازی شبکه متابولیکی در موجودات مختلف متفاوت است که این تفاوت به مقدار اطلاعات حاشیه‌گذاری شده برای موجود مورد نظر و روش‌های عملیاتی مناسب برای روند بازسازی آن بستگی دارد (۳، ۵). واضح است که برای مدل‌سازی شبکه متابولیکی احتیاج به داده‌ها در سطوح مختلف ژن، پروتئین و متابولیت داریم. امروزه تولید داده‌های ترنسکریپتومی با تکنیک‌هایی همچون توالی‌یابی نسل جدید امکان تولید داده‌های نسبتاً ارزان و در مقیاس بالا را تسهیل نموده‌اند. علاوه بر این امکانات محاسباتی و رایانه‌ای برای آنالیز دقیق این حجم بالا از داده‌ها مبتنی بر روش‌های بیوانفورماتیکی فراهم می‌باشد (۹، ۱۰). تلفیق این داده‌ها با داده‌های سطوح مختلف پساژنومی و بازسازی شبکه‌های متابولیکی به کشف سازوکارهای حدواسط میان ژنوتیپ تا فنوتیپ کمک می‌نماید و معیارهای ارزیابی و انتخاب مرسوم دام‌ها را به فنوتیپ واقعی نزدیک‌تر می‌گرداند که بدین ترتیب صحت و دقت ارزیابی‌ها بالاتر رفته و پیشرفت ژنتیکی و در نتیجه تولید بیشتر می‌گردد. بنابراین با توجه به اینکه بازسازی شبکه‌های متابولیک و شبیه‌سازی آن به ما این اجازه را می‌دهند تا بینش عمیق به مکانیزم‌های مولکولی ارگانیسم خاص پیدا کنیم، لذا در تحقیق حاضر، بازسازی شبکه متابولیکی بافت شکمبه با اطلاعات موجود در پایگاه‌های داده با هدف شناسایی هاب متابولیت‌ها در جهت بهبود استراتژی‌های اصلاح نژاد، انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### آماده‌سازی و تهیه داده از بانک‌های اطلاعاتی

برای به دست آوردن شبکه متابولیکی لازم است تا ابتدا داده‌های مورد نیاز برای تعریف شبکه را از میان منابع موجود جمع‌آوری و سپس فهرستی از کلیه واکنش‌هایی که متابولیت‌ها در آن حضور دارند تهیه کرد. به منظور بازسازی شبکه متابولیکی بافت شکمبه، اطلاعات پایه این بافت از طریق سرویس ftp از بانک داده UniGene دانلود شد. در کل حدود ۴۷۸۹ ژن که در بافت شکمبه گاو بیان می‌شود شناسایی و انتخاب شدند. سپس هر کدام از ژن‌ها در سایت Uniprot برای تایید آنزیم بودن چک شدند و از این میان ژن‌هایی که کدکننده آنزیم بودند برای مرحله بعدی انتخاب شدند. عملکرد کاتالیزوری هر آنزیم به صورت کلی از طریق شماره EC تخصیص داده شده به هر واکنش کاتالیز شده بررسی می‌شود. اطلاعات واکنش‌های مربوط به هر آنزیم مورد نظر از پایگاه KEGG استخراج شد. از آنجا که اطلاعات چرخه‌های ثبت شده در KEGG برای ارگانیسم‌های خاص معمولاً دارای خطا است و علاوه بر این چون اطلاعات همه آنزیم‌ها و واکنش‌های درگیر وجود ندارد (۱۷)، برای ساخت یک شبکه متابولیکی کامل مناسب نیستند، از سایت BRENDA نیز استفاده شد. بنابراین اطلاعات هر واکنش شامل فرمول واکنش، GO Number، برگشت‌پذیر و غیربرگشت‌پذیر بودن واکنش، محل انجام واکنش، ژن‌های دخیل در واکنش و کد پروتئینی آنزیم مربوط به واکنش مورد نظر استخراج شد. تمام واکنش‌ها با سوبستراها و محصولاتشان انتخاب می‌شوند، اگرچه ممکن است برخی ژن‌ها به عنوان مثال هیدولازها واکنش تعریف شده‌ای نداشته باشند. بنابراین چون

آزاد فقط در حالتی معتبر هستند که پارامتر توزیع نمایی کوچکتر از ۳ باشد ( $\gamma < 3$ )، هر چه مقدار پارامتر  $\gamma$  کوچکتر باشد نشان‌دهنده مهم‌تر بودن نقش هاب‌ها در شبکه می‌باشد (۳). ضریب همبستگی (R) در شبکه ۰/۷۵ به دست آمد که نشان می‌دهد شبکه ساخته شده، به طور کامل مشخصات یک شبکه واقعی را دارد و یک شبکه تصادفی نمی‌باشند.

### فاصله، طول مشخصه مسیر و قطر شبکه

در یک شبکه متشکل از NV گره، dij به معنای فاصله بین هر دو گره  $n_i$  و  $n_j$  می‌باشد که به صورت کوتاه‌ترین مسیر بین این دو گره معرفی می‌شود که نشان‌دهنده تعداد یال‌هایی است که باید برای رسیدن از گره  $n_i$  به  $n_j$  طی شود (۹). طول مشخصه مسیر عبارت از میانگین تعداد مراحل در بین کوتاه‌ترین مسیرها برای همه جفت گره‌های شبکه می‌باشد (۳). میانگین طول مسیر محاسبه شده، نشان می‌دهد که آیا شبکه ایجاد شده، خاصیت جهان کوچک را دارا می‌باشد یا خیر که در صورت دارا بودن بدین معنی است که معمولا از هر گره، با تعداد مسیر کم و نیز کوتاه می‌توان به گره دیگر رسید (۱۹) شکل D-۲ توزیع کوتاه‌ترین طول مسیر شبکه را نشان می‌دهد و میانگین طول مشخصه مسیر ۱۳/۱۴۲ به دست آمد که این مقدار بزرگتر از آن است که شبکه تصادفی محسوب شود. یکی دیگر از ویژگی‌های مورد بررسی، قطر شبکه است که طولانی‌ترین مسیر میان دو گره است که به صورت  $\text{Max}(d_{ij}) = d_m$  نشان داده می‌شود. مقدار این ویژگی برای شبکه ۳۸ بدست آمد. بررسی این پارامتر در شبکه‌های بیولوژیکی می‌تواند برای تفسیر عملکرد پروتئین‌هایی که بهم مرتبط هستند و یا عملکردشان بر هم تاثیر متقابل دارند به کار گرفته شود. تحقیقات جنونگ و همکاران (۹) نشان داد که بسیاری از شبکه‌های متابولیتی، میانگین طول مسیر تقریبا مشابه دارند که این می‌تواند نشان دهنده این باشد که اغلب متابولیت‌ها در طی مراحل کوچکی می‌تواند به یکدیگر تبدیل شوند، اگرچه در یافته‌های ما و زنگ (۱۱) این موضوع از نظر بیوشیمیایی معنی‌دار نبود. همچنین آن‌ها نشان دادند که یوکاریوت‌ها میانگین طول مسیر طولانی‌تری در مقایسه با باکتری‌ها دارند. میانگین طول مسیر و قطر شبکه در تحقیق حاضر به مقادیر به دست آمده برای یوکاریوت‌ها (۹/۵۷ و ۳۳/۱) نزدیکتر بود تا مقادیر به دست آمده برای باکتری‌ها (۷/۲۳ و ۲۰/۶). همچنین نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که اگرچه ساختار پایه شبکه‌های متابولیکی برای همه موجودات زنده مورد بررسی آن‌ها مشابه بوده است، اما در پارامترهایی مانند ویژگی‌های قطر و میانگین طول مسیر شبکه، تفاوت‌های وجود این تفاوت‌ها منعکس کننده تاریخچه تکاملی متفاوت آن‌هاست.

### ضریب خوشه‌بندی و تمرکز شبکه

یکی دیگر از معیارهای ساختار داخلی یک شبکه ضریب خوشه‌بندی (C) است که با یکپارچگی موضعی یک شبکه مرتبط است و احتمال ارتباط دو گره با یک همسایه مشترک را محاسبه می‌کند (۲۰). مقدار این پارامتر در شبکه تقریبا نزدیک به صفر به دست آمد، زیرا برنامه سایتواسکیپ قادر به نمایش اعداد بسیار کوچک نمی‌باشد. در مورد شبکه‌های بدون جهت گره‌ای مانند  $n_i$  با همسایه‌های  $k_i$ ، حداکثر تعداد یال‌هایی که بین گره‌های همسایه این گره می‌تواند برقرار شود به صورت:

توزیع درجه، آنترپوی، ضریب خوشه‌بندی، مشخصه مسیر و غیره که این خصوصیات توپولوژیکی یک شبکه را تعریف می‌کند.

### نتایج و بحث

روند بازسازی و آنالیز این شبکه متابولیکی با استفاده از نرم‌افزار سایتواسکیپ منجر به تولید شبکه کلی از ژن‌ها، آنزیم‌ها و متابولیت‌های درگیر در متابولیسم‌های بافت شکمبه شد. در سیستم‌های زیستی، شبکه‌ها به عنوان گراف، زوج مرتبی از گره‌ها و یال‌ها می‌باشد که گره‌ها توسط یال‌ها به هم متصل می‌شوند. در شبکه متابولیکی این تحقیق که به عنوان شبکه متابولیک محور هستند، متابولیت‌ها به عنوان گره و آنزیم‌های کاتالیزکننده واکنش‌های مزبور به عنوان یال در نظر گرفته شدند (شکل ۱). شبکه مورد نظر از ۱۴۲۹ گره و ۱۷۷۱ یال تشکیل شده است. پارامترهای بیولوژیکی و توپولوژیکی محاسبه شده شبکه در جدول ۱ نشان داده شده است. زمانی که یک فرآیند زیستی توسط یک شبکه نمایش داده می‌شود، با کمک تئوری شبکه‌های پیچیده می‌توان به طور سیستماتیک خصوصیات ساختاری آن فرآیند را توصیف کرد. پس از تجزیه و تحلیل توپولوژی شبکه به دنبال آن می‌توان به کشف عملکرد، اصول طراحی و سازماندهی زیست‌شناسی سامانه‌ها پرداخت. بنابراین تجزیه و تحلیل کمی از ویژگی‌های مقیاس بزرگ شبکه‌های پیچیده تاثیر قابل توجهی بر دیدگاه فعلی ما از آن فرآیندها می‌گذارد. از این رو ویژگی‌های توپولوژیکی شبکه متابولیکی بافت شکمبه شامل توزیع درجه، توزیع همسایگان مشترک، تمرکز شبکه، طول مشخصه مسیر، ضریب توپولوژیکی و مرکزیت میانگینی محاسبه شد (شکل ۲).

### توزیع درجه گره

توزیع درجه گره شبکه متابولیکی بافت شکمبه در شکل A-۲ نشان داده شده است. از آنجایی که شبکه‌های متابولیکی می‌بایست از خاصیت مقیاس آزاد و از توزیع درجه نمایی پیروی کنند این مساله در شبکه‌های ساخته شده این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. یک گره در یک شبکه با مقیاس آزاد که دارای  $k$  ارتباط با دیگر گره‌ها می‌باشد، از توزیع درجه نمایی با روابط زیر پیروی می‌کند. که در آن  $\gamma$  یک پارامتر نمایی می‌باشد:  $P(k) \sim k^{-\gamma}$ . با توجه به کوچک بودن مقدار پارامتر  $\gamma$  (۰/۸۹) و گراف توزیع درجه، تابعیت مقیاس آزاد شبکه مورد بررسی این طرح معنی‌دار بوده و بنابراین شبکه از توزیع قانون نمایی تبعیت می‌کند. این بدین معنی است که اکثر متابولیت‌ها (به عنوان گره)، در تعداد کمی از واکنش‌ها شرکت دارند و تعداد کمی از متابولیت‌ها هستند که در تعداد زیادی از واکنش‌ها شرکت می‌نمایند (۱۸).

بنابراین در این حالت، فقط گره‌های با درجه بالا و پایین را نگاه می‌کنیم و لذا اگر گره‌های پایین را به شکل تصادفی خارج کنیم، تغییر اساسی در شبکه ایجاد نمی‌شود. ولی از طرفی شبکه به حذف گره‌های با درجات بالا (یعنی هاب متابولیت‌ها) حساس هستند و با حذف آن‌ها به تغییر معنی‌داری در شبکه و متعاقبا در سلول می‌شود (۱۶). طبق مطالعات محققان، هاب‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی، عموما کوفاکتورهایی مثل ATP، ADP، NADH می‌باشند و حد واسط گلیکولیز و چرخه کربس نیز جزو این دسته قرار می‌گیرند (۱۴). به طور کلی، ویژگی‌های شبکه‌های دارای خاصیت مقیاس

$$E_{max} = k_i(k_i - 1)^2$$

است. بنابراین ضریب خوشه‌بندی گره  $m_i$ ، که به صورت  $C_i$  نمایش داده می‌شود از این قرار است: نسبت تعداد یال‌های بالفعل بین گره‌های همسایه به حداکثر تعداد یال‌هایی که به طور بالقوه می‌تواند بین گره‌های همسایه اش برقرار شود. در واقع این خصوصیت مختص به یک گره به تنهایی نیست بلکه مرتبط به همسایه‌های گره مدنظر می‌باشد. تمرکز شبکه پارامتر دیگری از ویژگی‌های توپولوژیک یک شبکه می‌باشد که مقدار این پارامتر برای شبکه ۰/۰۱۹ به دست آمد. در شبکه‌هایی که شکل ستاره‌ای دارند، معمولا عدد تمرکز شبکه نزدیک به یک است و هر چه از این توپولوژی دورتر شوند عدد به صفر نزدیک می‌شود (۱۸). یک هدف اصلی از ساخت شبکه‌ها پیدا کردن ماژول هستند که نقش مهمی در نگهداری شبکه دارند و بنابراین شناسایی آن‌ها می‌تواند اطلاعات مفیدی از متابولیت‌های دخیل در بافت شکمبه به ما بدهند که بر اساس شیوه از بالا به پایین (مهندسی معکوس) که یکی از دو مدل اصلی ساخت شبکه در زیست‌شناسی سامانه‌ها است (۵) و با داشتن سایر اطلاعاتی که برای ساخت شبکه استفاده شد می‌توان به واکنش، آنزیم و ژن‌های مورد نظر در این مسیر دست یافت. در این تحقیق ۳۵ متابولیت هاب بر طبق الگوریتم Bottleneck (BN) شناسایی شد که ۲۰ متابولیت جز متابولیت‌های عمومی شبکه‌ها بودند و در نهایت ۱۵ هاب متابولیت بافت شکمبه در جدول ۲ ارائه شده است. علاوه بر این در جدول ۳ نتایج آنالیز KEGG pathway واکنش‌ها و چرخه‌هایی که هاب متابولیت‌ها در آن‌ها دخیل هستند گزارش شده است.

هاب متابولیت‌ها در شبکه‌های با مقیاس آزاد نقش مهمی در حفظ و نگهداری قدرت توپولوژیکی شبکه دارند که بنابراین هاب متابولیت‌های شناسایی شده در بافت شکمبه برای عملکرد صحیح بافت و در نتیجه برای تحقیقات اصلاح نژاد مفید است. در این مطالعه ۱۵ هاب متابولیت اول که دارای درجه بالاتری بودند بدون در نظر گرفتن هاب متابولیت‌های عمومی شناسایی شد. نیکولایف و همکاران (۱۴) نشان دادند که در یک شبکه متابولیت- مرکز، گره‌های با بیشترین درجه و اتصال احتمالا متابولیت-های بسیار محافظت شده هستند بنابراین هاب متابولیت‌های شبکه حاضر نقش مهمی در دینامیک، بازدهی هضم و کارایی بافت شکمبه دارند. نتایج آنالیز هاب متابولیت‌ها در KEGG pathway نشان داد که بیشتر هاب متابولیت‌های این شبکه مانند کوآنزیم-آ، سوکسینات، اوبی‌کینون، د- فروکتوز ۶ فسفات، استیل کوآنزیم-آ، تتراهیدروفولات، پیروات، فلاوپروتئین حامل الکترون و ۲- اگزوتارات، در واکنش‌های مربوط به چرخه‌های متابولیکی شرکت دارند. ژنو و همکاران (۲۱) متابولیت‌های بافت شکمبه گاو شیری را با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی جرمی شناسایی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد ال- تیروزین دارای یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های بافت شکمبه است که دارای تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار اسیدوزی و تیمار اسیدوزی همراه با مکمل تیماین داشته است. بنابراین می‌توان اندازه مقدار ال- تیروزین را به عنوان یک بیومارکر در بافت شکمبه که دارای عملکرد سالمی است معرفی کرد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود ژن‌های GPAT2، GPAT3، GPAT4، GPAM (2.3.1.15)، ETFDH (2.3.1.41)، CPT1C، CPT1B، CPT1A، CPT2 (2.3.1.21) در واکنش‌های متابولیسم اسیدهای چرب شرکت می‌کنند که ژن‌های مرتبط با این چرخه احتمالا

می‌توانند نقش مهمی در بازده غذایی و تولید گوشت دام داشته باشند به این دلیل که تغییر در متابولیت‌های شکمبه باعث ایجاد تفاوت در ضریب رشد گاو خواهد شد (۱). از طرفی پروسه بیوسنتز اسیدهای چرب در بین گونه‌های مختلف بسیار محافظت شده است که با کربوکسیله کردن استیل کوآنزیم-آ آغاز و باعث تولید مالونیل کوآنزیم-آ می‌شود. مولفه سلولی هاب متابولیت استیل کوآنزیم-آ در سیتوزول می‌باشد و از طرفی مطالعات بسیاری نشان داده که گلوکز و استات مهم‌ترین منابع کربنی استیل کوآنزیم-آ سیتوزولی برای سنتز اسید چرب است. از سوی دیگر نرخ پایین تبدیل گلوکز به پیروات (چرخه گلیکولیز) موجب کاهش نرخ استفاده از گلوکز برای سنتز اسیدچرب در بافت شکمبه می‌شود. نتایج آنالیز چرخه نشان داد واکنش‌های کاتالیز شده توسط آنزیم اسیل پیروات هیدرولاز (۳،۷،۱،۵)، هیدروکسی اسیل گلوکاتایون هیدرولاز (۳،۱،۲،۶) و فورمات استیل ترانسفراز (۲،۳،۱،۵۴) در چرخه‌های متابولیسم پیروات شرکت دارند.

پیروات یکی از متابولیت‌های کلیدی در مسیرهای متابولیسم انرژی است. فومارات استیل ترانسفراز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های متابولیسم پیروات از طریق نقش آن در تبدیل برگشت‌پذیر پیروات به استیل کوآنزیم-آ می‌باشد. ژن‌های *SARS2*، *SARS (6.1.1.11)*، *YARS2*، *YARS (6.1.1.1)*، *WARS2*، *WARS (6.1.1.2)* در چرخه بیوسنتز آمینو اسیل-ec۰۰۹۷ trRNA دخیل هستند. تمام واکنش‌های کاتالیز شده توسط این آنزیم‌ها در واکنش‌های انتهایی چرخه‌ها دخالت دارند که تغییر در بیان این ژن‌ها مستقیما می‌تواند بر روی محصولات آن‌ها و در نتیجه چرخه ذکر شده تاثیر بگذارد. متابولیسم انرژی و اسیدهای آمینه از عناصر کلیدی هستند که وضعیت سطح انرژی یک حیوان و عملکرد آن را تعریف می‌کند. نتایج آنالیز چرخه برای هاب متابولیت‌ها، آنزیم و ژن‌های غنی شده در بیوسنتز اسیدهای آمینه را نشان می‌دهد که شامل *GLYAT2*، *GLYAT (2.3.1.13)*، *HIBCH (3.1.2.4)* در متابولیسم بتا-آلانین، والین-لوسین و ایزولوسین و *SAT2*، *SAT1 (2.3.1.57)* در متابولیسم آرژنین و پرولین و همچنین *FAHDI (3.7.1.5)* در متابولیسم تیروزین، می‌باشند. در مجموع با بهره‌گیری از روش مهندسی معکوس می‌توان استنتاج کرد، تغییرات معنی‌دار متابولیت‌ها می‌تواند ناشی از تغییر در بیان ژن‌هایی باشد که در تولید آنزیم‌های این واکنش‌ها دخالت دارند و تغییر بیان ژن‌ها می‌تواند اثر مستقیم روی سلامت و میزان بازدهی تولیدات گاو داشته باشد. متابولیت‌های هاب شناسایی شده در این تحقیق برای بافت شکمبه، نقش کلیدی در مسیرهای مختلف ذکر شده دارند که می‌بایست از جنبه‌های مختلف در مطالعات آینده اصلاح نژاد مورد توجه قرار بگیرند زیرا که می‌توانند به عنوان بیومارکرهای مفید برای تشخیص سلامت عملکرد بافت شکمبه، مدیریت بهتر بیمارهای متابولیکی شکمبه و افزایش بازدهی محصولات دام به کار رود.

### نتیجه‌گیری کلی

هدف از این تحقیق توسعه درک بیولوژی مهم‌ترین بافت موثر بر بهبود بازده تولید یعنی شکمبه، در سطح سیستمی بود. بنابراین بازسازی شبکه متابولیکی این بافت برای شناسایی سازوکارهای حدواسط میان ژنوتیپ تا فنوتیپ انجام شد. نتایج بازسازی و بررسی ویژگی‌های توپولوژیک شبکه متابولیت محور این بافت نشان داد که، شبکه شامل ۱۴۲۹ متابولیت به

cal networks and gene expression data using Cytoscape. *Nat Protoc* 2(10):2366-82.

7. Cottle, D. and L. Kahn. 2014. Beef cattle production and trade. CSIRO Publishing p. 221.

8. Degtyarenko, K., P. de Matos., M. Ennis., J. Hastings., M. Zbinden., A. McNaught., R. Alcántara., Darsow M., M. Guedj., M. Ashburner. 2008. ChEBI: a database and ontology for chemical entities of biological interest. *Nucleic Acids Res* 36: D344-50.

9. Hadizadeh, M., Niazi, A., Mohammad Abadi, M., Esmailzadeh, A., Mehdizadeh., Gazooei, Y. 2014. Bioinformatics analysis of the BMP15 exon 2 in Tali and Beetal goats. *Modern Genetics* 9 (1), 117-120.

10. Hadizadeh, M., Mohammadabadi, M.R., Niazi, A., Esmailzadeh Koshkoiyeh, A.K., Mehdizadeh Gazooei, Y., Molaei, S. 2013. Use of bioinformatics tools to study exon 2 of GDF9 gene in Tali and Beetal goats. *Modern Genetics Journal (MGJ)* 8 (334), 283-288.

11. Jeong, H., B. Tombor., R. Albert., Z.N. Oltvai and A.L. Barabási. 2000. The large-scale organization of metabolic networks. *Nature* 5;407(6804):651-4.

12. Kanehisa, M., M. Araki., S. Goto., M. Hattori and M. Hirakawa. 2008. KEGG for linking genomes to life and the environment. *Nucleic Acids Res* 36: D480-4.

13. Kharrati Koopaei, H., Mohammad Abadi, M.R., Ansari Mahyari, S., Tarang, A.R., Potki, P., Esmailzadeh, A.K. 2012. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. *Animal Science Papers & Reports* 30 (3), 231-240

14. Kharrati Koopaei, H., Mohammadabadi, M.R., Ansari Mehyari, S., Esmailzadeh, A.K., Tarang, A., Nikbakhti, M. 2011. Genetic Variation of DGAT1 Gene and its Association with Milk Production in Iranian Holstein Cattle Breed Population. *Iranian Journal of Animal Science Research* 3 (2), 185-192 (In Farsi).

15. Ma, H and A. Zeng. 2003. Reconstruction of metabolic networks from genome data and analysis of their global structure for various organisms. *Bioinformatics* 19: 270-7.

16. Managbanag, JR, T.M. Witten., D. Bonchev., L.A. Fox., M. Tsuchiya., Kennedy BK and M. Kaeberlein. 2008. Shortest-path network analysis is a useful approach toward identifying genetic determinants of longevity. *PLoS ONE* 3: e3802

17. Mazurie, A., D. Bonchev., B. Schwikowski and G. A. Buck. 2010. Evolution of metabolic network organization. *BMC Syst Biol* 11; 4:59.

18. Nikolaev, E.V., A.P. Burgard and C. D. Maranas. 2005. Elucidation and structural analysis of conserved pools for genome-scale metabolic reconstructions. *Biophys J* 88: 37-49.

19. Pasandideh, M., Mohammadabadi, M.R., Esmailzadeh, A.K.,

عنوان گره و ۱۷۷۱ آنزیم کاتالیزکننده واکنش‌های مزبور به عنوان یال است. توزیع درجه شبکه از توزیع نمایی پیروی می‌کند بنابراین خاصیت مقیاس آزاد را نمایش می‌دهد. میانگین طول مشخصه مسیر و تمرکز شبکه به ترتیب ۱۳/۱۴۲ و ۰/۰۱۹ به دست آمد که نشان دهنده خاصیت جهان کوچک، شبکه می‌باشد. ۱۵ هاب متابولیت اول که دارای درجه بالاتری بودند، بدون در نظر گرفتن هاب متابولیت‌های عمومی مشخص شدند. نتایج آنالیز هاب متابولیت‌ها در KEGG pathway نشان داد که بیشتر هاب متابولیت‌های این شبکه مانند کوآنزیم آ، سوکسینات، اوبی کینون، د- فروکتوز ۶ فسفات، استیل کوآنزیم آ، تتراهیدروفولات، پیروات، فلاوپروتئین حامل الکترون و ۲- اگزوتارات درگیر واکنش‌هایی هستند که در چرخه‌های متابولیکی مانند بیوسنتز اسیدهای چرب، بیوسنتز اسیدهای آمینه و متابولیسم انرژی شرکت دارند. اگرچه شبکه متابولیکی بازسازی شده در این تحقیق بر پایه اطلاعات به دست آمده از منابع و پایگاه‌های داده مختلف است، اما هنوز بسیاری از فاکتورهای ناشناخته می‌تواند بر نتایج به دست آمده از جهت شناسایی هاب متابولیت‌های مفید به عنوان بیومارکر تاثیر داشته باشد. با این وجود می‌توان انتظار داشت این تحقیق به فهم بهتر مدل سازی بافت شکمبه کمک نماید و با ارائه دیدگاه جامع و سیستمیک از این بافت قدم مفیدی در اصلاح نژاد گاو، برداشته باشد.

#### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بخاطر حمایت مالی تقدیر و تشکر می‌گردد.

#### پاورقی‌ها

1. Enzyme Commission (EC) number.
2. Systems Biology Markup Language (SBML).
3. Cytoscape.
4. Plugin.
5. Top-down.

#### منابع مورد استفاده

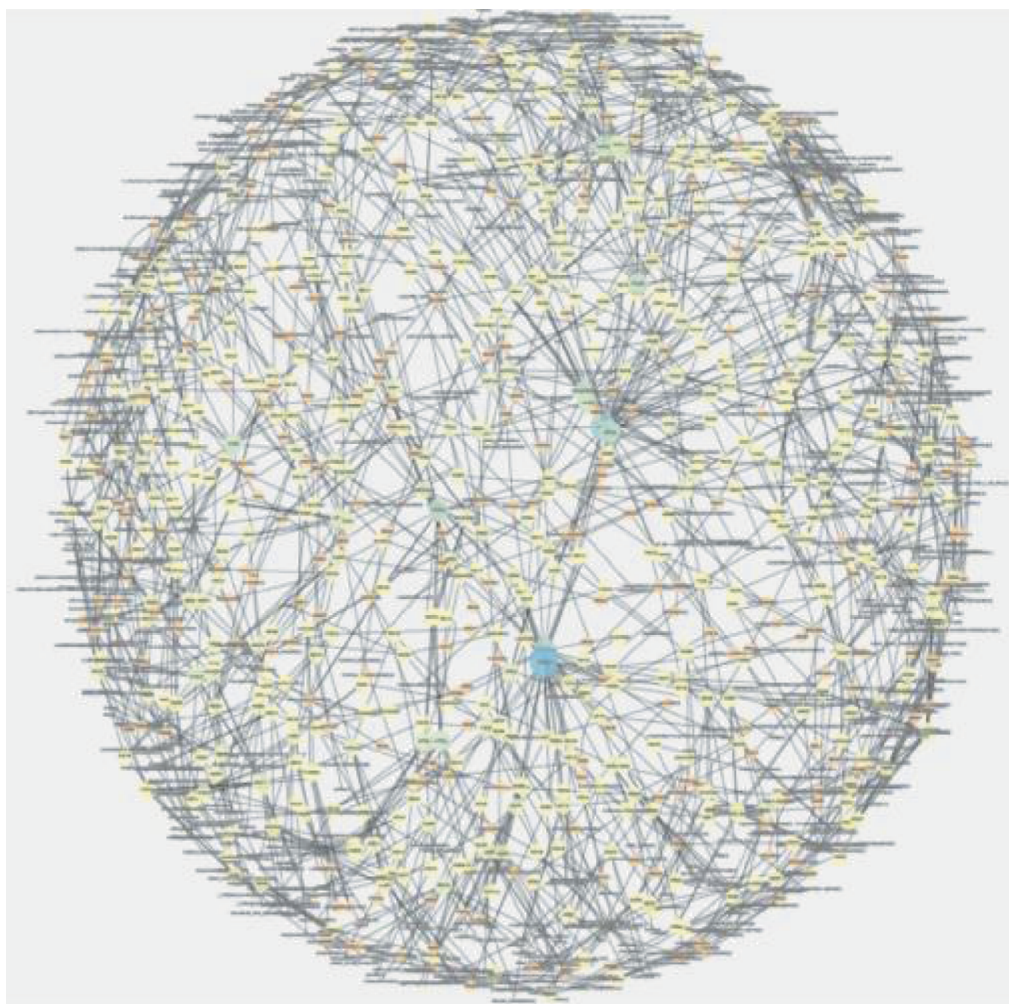
1. Artegoitia, V.M., A.P. Foote., R. M. Lewis and H. C. Freetly. 2017. Rumen Fluid Metabolomics Analysis Associated with Feed Efficiency on Crossbred Steers. *Sci Rep* 6;7(1):2864
2. Barabasi, A and R. Albert. 1999. Emergence of scaling in random networks. *Science* 286: 509-12.
3. Barabási, A.L and Z. N. Oltvai. 2004. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat Rev Genet* 5(2):101-13.
4. Bornstein, B.J, S. M. Keating., A. Jouraku and M. Hucka. 2008. LibSBML: an API library for SBML. *Bioinformatics* 24: 880-1.
5. Bruggeman, F.J and H.V. Westerhoff. 2007. The nature of systems biology. *Trends Microbiol* 15(1):45-50.
6. Cline, M.S., M. Smoot., E. Cerami., A. Kuchinsky., N. Landys., C. Workman., R. Christmas., I. Avila-Campilo., M. Creech., B. Gross., K. Hanspers, R. Isserlin and R. Kelley. 2007. Integration of biologi-

- Tarang, A. 2015. Association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk production and composition in Holstein cattle. *Czech J. Anim. Sci* 60, 97-104.
20. Poolman, M.G., B.K. Bonde., A. Gevorgyan., H.H. Patel and D.A. Fell. 2006. Challenges to be faced in the reconstruction of metabolic networks from public databases. *Syst Biol* 153: 379-84.
21. Radrich, K., Y. Tsuruoka., P. Dobson., A. Gevorgyan., N. Swainston., G. Baart and J.M. Schwartz. 2010. Integration of metabolic databases for the reconstruction of genome-scale metabolic networks. *BMC Syst Biol* 16;4:114
22. Stein, S.E., S.R. Heller and D. Tchekhovskoi. 2003. An open standard for chemical structure representation: The IUPAC chemical identifier. *International Chemical Information Conference, Infor-*
- tics* 131-43.
23. Wang, C., J. Wang., Z. Ju., R. Zhai., L. Zhou., Q. Li., J. Li., R. Li., J. Huang and J. Zhong. 2012. Reconstruction of metabolic network in the bovine mammary gland tissue. *Mol Biol Rep* 39(7):7311-8.
24. Watts, D. J and S.H. Strogatz. 1998. Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature* 393: 440-2.
25. Zhang, P., H. Foerster., C.P. Tissier., L. Mueller., S. Paley., P.D. Karp and S.Y. Rhee. 2005. MetaCyc and AraCyc. Metabolic pathway databases for plant research. *Plant Physiol* 138: 27-37.
26. Xue, F., X. Pan., L. Jiang, Y. Guo and B. Xiong. 2018. GC-MS analysis of the ruminal metabolome response to thiamine supplementation during high grain feeding in dairy cows. *Metabolomics* 14(5):67.



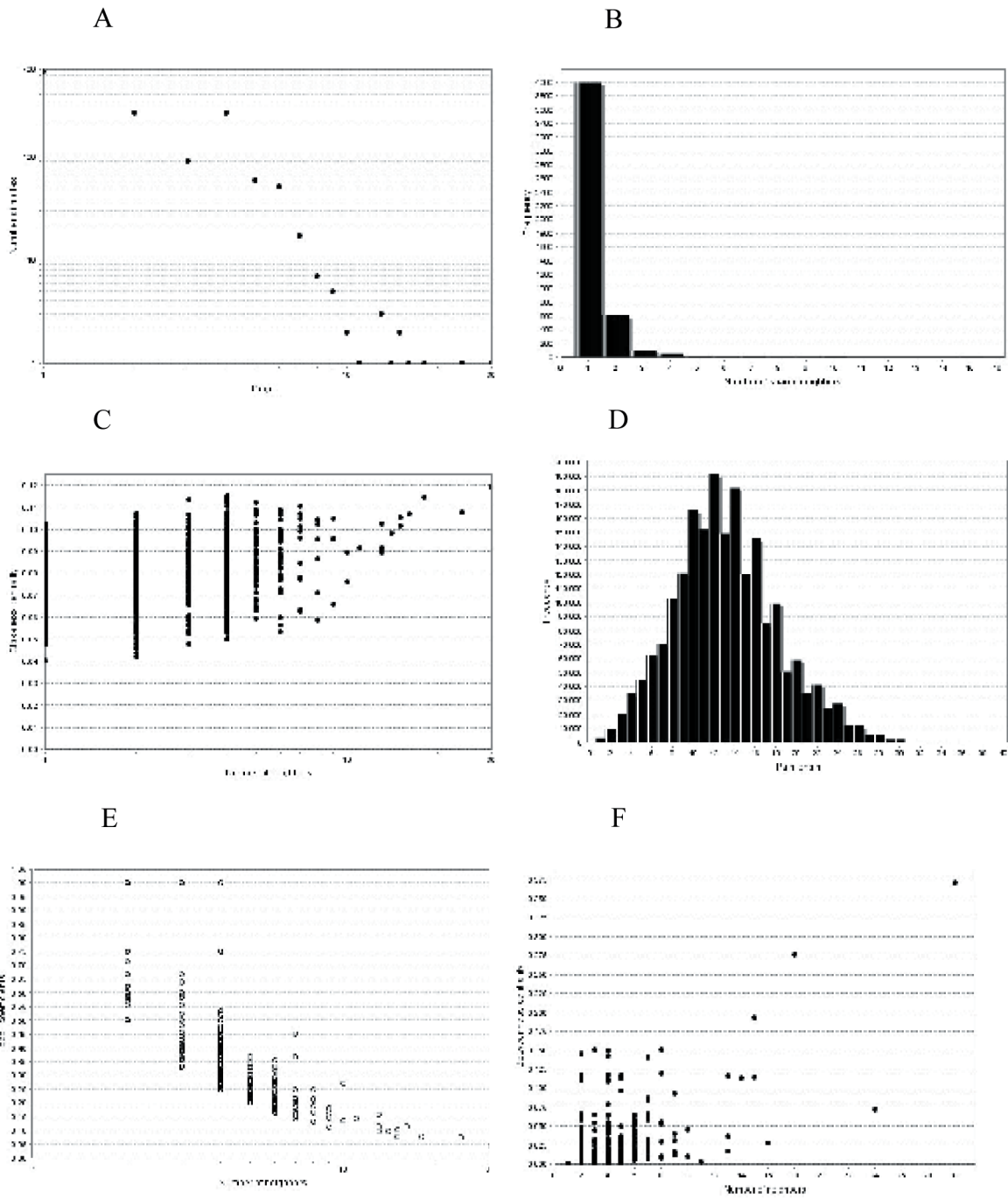
جدول ۱- پارامترهای توپولوژیک شبکه متابولیک بافت شکمبه

پارامترها	ارزش	پارامترها	ارزش
گره	۱۴۲۹	تراکم	۰/۰۰۳
یال	۱۷۷۱	قطر شبکه	۳۸
تمرکز	۰/۰۱۹	میانگین طول مشخصه مسیر	۱۳/۱۴۲



شکل ۱- شبکه متابولیک محور بافت شکمبه. متابولیت‌ها به عنوان گره و آنزیم‌های واکنش‌های مزبور به عنوان یال در نظر گرفته شدند.





شکل ۲- ویژگی های توپولوژیک شبکه متابولیکی بافت شکمبه A. توزیع درجه گره، B. توزیع همسایگان مشترک C. تمرکز شبکه D. طول مشخصه مسیر E. ضریب توپولوژیکی F. مرکزیت میانگینی.

جدول ۱۵-۲. هاب متابولیت شبکه متابولیکی بافت شکمیه.

CheBI ID	PubChemID	KeggID	مواقع سلولی	فرمول شیمیایی	نام هاب متابولیت ها
۱۵۲۴۶	۴۶۰۰۶۴۳	C۰۰۰۱۰	میتو کندری	C <sub>21</sub> H <sub>3۶</sub> N <sub>7</sub> O <sub>۱۶</sub> P <sub>3</sub> S	کوآنزیم-آ
۱۶۸۵۶	۳۳۵۳	C۰۰۰۵۱	سیتوپلاسم	C <sub>۱۰</sub> H <sub>۱۷</sub> N <sub>3</sub> O <sub>۶</sub> S	گلوکاتیون
۱۶۶۸۰	۴۳۹۱۵۵	C۰۰۰۲۱	هسته	C <sub>۱۴</sub> H <sub>۲۰</sub> N <sub>۶</sub> O <sub>۵</sub> S	اس-آدنوزیل-ال - هموسیستین
۶۷۰۴۰	۳۴۷۵۵	C۰۰۰۱۹	هسته	C <sub>۱۵</sub> H <sub>۲۲</sub> N <sub>۶</sub> O <sub>۵</sub> S	اس-آدنوزیل-ال - متیونین
۳۰۹۱۵	۳۳۲۸	C۰۰۰۲۶	میتو کندری	C <sub>۵</sub> H <sub>۶</sub> O <sub>۵</sub>	۲-اگزوگلوکاتارت
۱۵۲۵۱	۳۳۲۶	C۰۰۰۲۴	سیتوپلاسم	C <sub>۲۳</sub> H <sub>۳۸</sub> N <sub>7</sub> O <sub>۱۷</sub> P <sub>3</sub> S	استیل کوآنزیم-آ
۱۵۹۴۶	۳۳۸۵	C۰۰۰۸۵	سیتوپلاسم	C <sub>۶</sub> H <sub>۱۳</sub> O <sub>۹</sub> P	د-فرکتوز-۶ فسفات
۱۶۳۸۹	۵۲۸۰۳۴۶	C۰۰۰۳۹۹	میتو کندری	C <sub>۱۹</sub> H <sub>۲۶</sub> O <sub>۴</sub>	ای کینون
۳۰۷۵۱	۳۳۵۸	C۰۰۰۵۸	میتو کندری	CH <sub>2</sub> O <sub>۲</sub>	فورمات
۵۷۶۹۲	۶۹۱۸	C۰۰۴۲۵۳	میتو کندری	C <sub>۲۷</sub> H <sub>۳۰</sub> N <sub>۹</sub> O <sub>۱۵</sub> P <sub>۲</sub>	فلاوپروتئین ناقل الکترون
۲۹۱۵۹	۳۳۷۸	C۰۰۰۷۸	سیتوپلاسم	C <sub>۱۱</sub> H <sub>۱۲</sub> N <sub>2</sub> O <sub>۲</sub>	ال-تریپتفان
۳۲۸۱۶	۳۳۲۴	C۰۰۰۲۲	میتو کندری	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>۳</sub>	پروات
۱۷۸۹۵	۳۳۸۲	C۰۰۰۸۲	سیتوپلاسم	C <sub>۹</sub> H <sub>۱۱</sub> N <sub>3</sub> O <sub>۳</sub>	ال-تیروزین
۱۵۶۳۵	۳۴۰۱	C۰۰۱۰۱	میتو کندری	C <sub>۱۹</sub> H <sub>۲۳</sub> N <sub>7</sub> O <sub>۱۶</sub>	تتراهیدروفولات
۱۷۱۱۵	۳۳۶۵	C۰۰۰۶۵	هسته	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>۳</sub>	ال-سرتین

جدول ۳- آنزیم، واکنش و چرخه هایی که متابولیت ها در آن ها غنی شده اند.

چرخه ها	واکنش	ژن	شماره EC	نام هاب متابولیت ها
-Valine_ leucine and isoleucine degradation -beta-Alanine metabolism -Metabolic pathways	$3\text{-hydroxy-}\gamma\text{-methylpropanoyl-CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CoA[mt]} + 3\text{-hydroxy-}\gamma\text{-methylpropanoate}$ Reaction (KEGG): R۰۳۳۵۲	HIBCH	۳،۱،۲،۴	کوآنزیم-آ
Pyruvate metabolism	$\text{S-}\gamma\text{-hydroxyacylglutathione} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{glutathione} + \gamma\text{-hydroxy\_carboxylate}$	HAGH	۳،۱،۲،۶	گلو تاتیون
Fatty acid degradation	$\text{S-adenosyl-L-methionine} + \text{L-lysine-histone} \rightleftharpoons \text{S-adenosyl-L-homocysteine} + \text{N-}\delta\text{methyl-L-lysine-histone}$ Reaction (KEGG): R۰۱۹۲۳	CPT۲, CPT۱A, CPT۱B, CPT۱C	۲،۳،۱،۱	اس-آدنوزیل-ال - هموسیتستین
Fatty acid degradation	$\text{S-adenosyl-L-methionine} + \text{L-lysine-histone} \rightleftharpoons \text{S-adenosyl-L-homocysteine} + \text{N-}\delta\text{methyl-L-lysine-histone}$ Reaction (KEGG): R۰۱۹۲۳	CPT۲, CPT۱A, CPT۱B, CPT۱C	۲،۳،۱،۲،۱	اس-آدنوزیل-ال - متیونین
Metabolic pathways	$\text{L-glutamate} + \text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+ \rightleftharpoons 3\text{-oxoglutarate} + \text{NH}_4^+ + \text{NADPH}$ Reaction (KEGG): R۰۳۵۵۲	KAT۸, CLOCK, EP۳۰۰, KAT۲B,	۲،۳،۱،۴۸	۲-اگزوگلو تارات
-Arginine and proline metabolism - Metabolic pathways	$\text{Acetyl-CoA} + 1 \text{ alkane-alpha\_omega-diamine} \rightleftharpoons \text{CoA} + 1 \text{ N-acetyldiamine}$	SAT۲, SAT۱	۲،۳،۱،۵۷	استیل کوآنزیم-آ
-Pentose-phosphate pathway -Metabolic pathways -Carbon metabolism -Biosynthesis of amino acids	$\text{Sedoheptulose-}\gamma\text{-phosphate} + \text{D-glyceraldehyde-}\gamma\text{-phosphate} \rightleftharpoons \text{D-erythrose-}\gamma\text{-phosphate} + \text{D-fructose-}\delta\text{-phosphate}$ Reaction (KEGG): R۰۳۹۵	GLYAT, GLYAT۲	۲،۳،۱،۱۳	د-فرکتوز - فسفات

ادامه جدول ۳-

چرخه ها	واکنش	ژن	شماره EC	نام هاب متابولیت ها
-Oxidative phosphorylation -Metabolic pathways -Retrograde endocannabinoid signaling	NADH + ubiquinone + ۵ H+In <=> NAD+ + ubiquinol + ۴ H+Out Reaction (KEGG): R۰۱۶۲۴	NDUFS۳	۲،۲،۱،۲۸	ای کیون
-Pyruvate metabolism -Metabolic pathway	Acetyl-CoA + formate <=> CoA + pyruvate	ACADS	۲،۲،۱،۵۴	فورمات
-Fatty acid biosynthesis -Biotin metabolism -Metabolic pathway	Reduced_electron-transferring_flavoprotein + ubiquinone <=> electron-transferring_flavoprotein + ubiquinol (KEGG): R۰۲۷۶۸	EITFDH	۲،۲،۱،۴۱	فلاو پروتئین ناقل الکترون
Amino acyl – tRNA synthetase	ATP + L-tryptophan + tRNA_Trp <=> AMP + diphosphate + L-tryptophyl-tRNA_Trp (KEGG): R۰۳۶۶۴	WARS, WARS۲	۶،۱،۱،۲	ال – تریپتفان
-Tyrosine metabolism -Metabolic metabolism -Pyruvate metabolism	-۲acetylpyruvate + H۲O <=> carboxylate + pyruvate Reaction (KEGG): R۰۰۵۲۳	FAHDI	۳،۷،۱،۵	پیروات
Amino acyl – tRNA biosynthesis	ATP + L-tyrosine + tRNA_Tyr <=> AMP + diphosphate + L-tyrosyl-tRNA_Tyr (KEGG): R۰۲۹۱۸	YARS, YARS۲	۶،۱،۱،۱	ال – تیروزین
-Glycolipid metabolism -Glycerophospholipid metabolism -Metabolic pathways -Biosynthesis of secondary metabolites	-۱۰-formyltetrahydrofolate + ۵-amino-۵-۱-phospho-D-ribosylimidazole-۲-carboxamide <=> tetrahydrofolate + ۵-formamido-۵-۱-phospho-D-ribosylimidazole-۲-carboxamide	GPAM, GPAT۴, GPAT۳, GPAT۲	۲،۲،۱،۱۵	تتراهدرو فولات
Amino acyl – tRNA biosynthesis	ATP + L-serine + tRNA_Ser <=> AMP + diphosphate + L-seryl-tRNA_Ser Reaction (KEGG): R۲۶۶۲	SARS, SARS۲	۶،۱،۱،۱۱	ال – سرین